

学位論文の要旨

学位の種類

博士

氏名

間宮 規章

学位論文題目

Nicotine suppresses the P13 auditory evoked potential by acting on the pedunculo-pontine nucleus in the rat.

(聴覚誘発電位の発現に対する脳幹内ニコチン作動薬注入の作用
—コリン作動性脳賦活系に対するニコチン抗不安作用の検討—)

共著者名:

R. Buchanan, T. Wallace, R.D. Skinner and E. Garcia-Rill

Experimental Brain Research (In Press)

研究目的

脳内のアセチルコリン性ニコチン受容体の機能不全は、統合失調症、アルツハイマー病、パーキンソン病などにおける覚醒異常や意識変容に関与する。中脳に存在する脚橋被蓋核(Pedunculo-pontine tegmental nucleus; PPN)からの上行性コリン作動性投射は、上行性網様体賦活系の一部として「意識レベルの維持」に関与しており、この神経核が覚醒・注意中枢として機能していると考えられるに至った(Reese et al. 1995)。一方、上記疾患患者では脚橋被蓋核に由来する P50 中潜時聴覚誘発脳波に変容が見られ、そしてこれにニコチン受容体に関与している可能性が指摘されている (Griffith et al. 1998)。ヒトの P50 に相当する誘発脳波は、ラットでは 13msec の潜時を持つ陽性電位で、P13 と呼ばれており脚橋被蓋核からの上行性投射の機能を評価する上で有意義である。本研究では P13 を指標として PPN に対するニコチンの作用を検討し、意識レベルの維持におけるニコチン受容体の機能的役割について考察した。

材料・方法

- 1) 実験動物; 雄性 Sprague-Dawley ラット (BW250-350) 32 匹を用いた。
- 2) 手術; 頭蓋骨に誘発電位記録用の電極を装着し、両側の中脳に薬物注入用のガイドカニューレを挿入した。後脛部の筋肉に筋電図記録用のニクロム wire を埋め込んだ。
- 3) 記録と解析; 500msec の間隔で 2 発の音刺激を加え、① PPN が関与する聴性脳幹反応 (P13)、② 海馬が関与する聴性脳幹反応 (N40)、③ PPN 出力で誘発される驚愕反応(Startle Response; SR)を各々記録・解析した。また、2 発の音刺激で誘発される第 1 の反応と第 2 の反応の相対比をもって馴れの現象を評価した。誘発電位や筋活動の振幅変化は、ANOVA およびニューマン-クールズ試験にて多重比較検定し、 $p < 0.05$ を有意とした。
- 4) 薬物の投与; ① コントロール群では、ニコチン(NIC) (0.3-2.5mg/kg)を全身投与し、用量依存性

学 位 論 文 の 要 旨

を検討した。②PPN の NIC 受容体を賦活するため、NIC 受容体の脱感作を惹起しない dimethylphenylpiperazinum (DMPP)を PPN 内に局所注入(1.0-12.5nM)し、かつ用量依存性を解析した。③ PPN の NIC 受容体をブロックするために mecamlamine (MEC; 10~100nM)を PPN 内注入し、その後、NIC(0.6mg/kg)の全身投与の効果を検討した。④同様に PPN に MEC を注入し、PPN への DMPP(12.5nM) 注入の効果を検討した。誘発された反応は薬剤投与後 10 分毎 60 分まで測定した。

成 績

1. NIC の全身投与群(n=8)では、P13, N40, SR の全てが抑制された。また、これらの抑制効果には用量依存性が確認された。一方、MEC を PPN に前投与した場合(n=8)には、NIC による P13, SR への抑制効果は有意に減弱した。しかし、N40 への抑制効果は有意には減弱しなかった。
2. DMPP の PPN 注入群(n=8)では、P13 が抑制された。この抑制作用にも用量依存性が確認された。しかし、N40 と SR は抑制されなかった。そして MEC を PPN に前投与した場合(n=8)、DMPP の P13 に対する抑制作用はブロックされた。
3. NIC の全身投与群および、DMPP の PPN 注入群において、P13, N40, SR の何れにおいても馴れの現象(馴化)の抑制は観察できなかった。

考 察

本研究では、P13、N40、そしてSRを用いて、PPNに対するNICの作用を検討した。結果として、P13だけが有意な変化を示した。この事実は、P13が、SRやN40よりも、PPNからの上行性投射の機能を評価する上で重要であることを示している。

P13は覚醒レベル依存性で、reticular activating system(RAS)のコリン作動系たるPPNの活性が高いとき(覚醒時とREM睡眠時)に発現すると考えられている(Datta 1995)。本研究ではNICの全身投与やDMPPのPPN内注入は、ともにP13を抑制した。このことは、NICが、RASのコリン作動系の活性を最終的に抑制する可能性があること、NICの作用部位の一つが、RASとりわけPPNニューロンであること、またその効果が、MEC感受性の α -4NIC受容体を介している可能性を示唆している。

PPNは、姿勢と歩行運動にも関係する。橋神経細胞のコリン作動系の活性化はSRの馴化を抑制し、一方PPNの病変は、SRの抑制を解除することが知られている。今回、NICによるSRの抑制効果を確認することができた。しかし、この抑制効果がPPNからの下行系投射を介して誘発されたものであるか否かについては結論付けることはできない。

N40は、コリン作動性入力によって調整され、 α -7NIC受容体によって調整されている。本研究ではN40はNIC全身投与でP13におけるより強く抑制されたが、DMPP、または α -4-b-2受容体拮抗剤MECのPPN内注入では影響されなかった。これにより覚醒レベルの漸減を意味するPPN出力の抑制がN40に影響しないことが明らかになった。これは、N40が睡眠や覚醒などのBehavioral stateに依存しない特性と符合している。

学 位 論 文 の 要 旨

今回用いた対の刺激パラダイムでは馴化に有意な変化は表れなかった。P13、N40 または SR のいずれにせよ、第1の反応の抑制が第1と第2の反応との相対比に大きく影響したためと考えられる。また諸家の報告では馴化の障害は正常動物ではなく、実験的もしくは病的状態で明確であったことにも留意する必要がある。

統合失調症では、いわゆる超覚醒状態、REM 睡眠の増加、レム睡眠への潜時の減少、そして徐波睡眠の減少が観察され、RAS (特に PPN を介した) 出力が著明に増加していると想定される。また重症例の一部では、PPN 核の細胞数が増加していることが報告されている。さらに統合失調症では、P50 の馴化が障害されているが、これは NIC によって一過性に軽減されるという。これらのことから統合失調症では、NIC は投与初期にコリン作動性 RAS 出力を抑制するらしいという見方ができるが、これは本研究の結果と整合している。統合失調症に見られる過度の喫煙傾向が、NIC の鎮静・抗不安効果に根ざした無意識的自己投薬の意味を持つことも理解できる。

結 論

1. ニコチンの全身投与や DMPP の PPN 内注入はラットの中潜時聴覚誘発反応脳波のひとつである P13 を用量依存性に抑制し、MEC の PPN 内注入その抑制効果をブロックした。
2. ニコチンの作用部位の一つが、網様体賦活系とりわけ中脳の PPN のニューロンである可能性があること、またその効果が、MEC 感受性の α -4 ニコチン受容体を介している可能性が示唆された。
3. このことから、ニコチンが、網様体賦活系のコリン作動系の活性を最終的に抑制する可能性があること、またそれによって、少なくとも投与初期には覚醒状態を鎮静する可能性をもつことが示唆された。

引 用 文 献

1. Datta S. Neuronal activity in the peribrachial area: relationship to behavioral state control. *Neurosci Biobehav Rev.* 1995; 19:67-84.
2. Griffith JM, O'Neill JE, Petty F, Garver D, Young D, Freedman R. Nicotinic receptor desensitization and sensory gating deficits in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1998; 44(2):98-106.
3. Reese NB, Garcia-Rill E, Skinner RD. The pedunculopontine nucleus--auditory input, arousal and pathophysiology. *Prog Neurobiol.* 1995; 47(2):105-33.

学 位 論 文 の 要 旨

参 考 論 文

1. The sleep state-dependent midlatency auditory evoked P50 potential in various disorders. *Thalamus & Related Systems* 2 (2002) 9-19
2. Protective effect of pretreatment with low-dose lipopolysaccharide on D-galactosamine-induced acute liver failure *Int Colorectal Dis* (2002) 17:98-103
3. Orthotopic Transplantation of a Partial Hepatic Autograft in Dogs. *Surg Today* (1997) 27:1035-1039

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士 (医学)	氏 名	間宮 規章
<p>審査委員長 原 淵 保 明 ㊦</p> <p>審査委員 坂 本 尚 志 ㊦</p> <p>審査委員 高草木 薫 ㊦</p> <p>審査委員 葛 西 眞 一 ㊦</p>			
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>Nicotine suppresses the P13 auditory evoked potential by acting on the pedunclopontine nucleus in the rat.</p> <p>(聴覚誘発電位の発現に対する脳幹内ニコチン作動薬注入の作用 —コリン作動性脳賦活系に対するニコチン抗不安作用の検討—)</p>			
<p>網様体賦活系(Reticular Activating System: RAS)のコリン作動性成分のひとつの脚橋被蓋核(Pedunclopontine nucleus: PPN)の機能不全は、覚醒異常や睡眠覚醒リズムの異常に関与する。そのため覚醒レベルの維持における脳賦活系のニコチン受容体の機能的役割を検討することは、覚醒異常の理解と治療に新たな展開をもたらす可能性がある。本論文は、PPNが中潜時聴覚誘発脳波の起源のひとつであることに注目し、ラットでPPNに由来するP13誘発電位の発現に対する脳幹内ニコチン作動薬注入の効果を検討し、ニコチンが覚醒レベルに影響を与えるか否かを考察したものである。</p> <p>本研究では PPN の上行性投射に由来する P13 電位のほか、同核からの下行性投射に由来する驚愕反応(Startle Response: SR)を筋電図から検出、またニコチン作用のコントロールとしてニコチン受容体を持つ海馬に由来する N40 聴覚誘発電位を指標とした。はじめにニコチン (0.3-2.5mg/kg)を全身投与し、誘発反応への影響を検討した(n=8)。その結果 P13, N40, SR の全てがニコチンの全身投与により抑制された。また、これらの抑制効果には用量依存性が確認された。次に、PPN のニコチン受容体を賦活するため、ニコチン受容体の脱感作を惹起しない dimethylphenylpiperazinium (DMPP)を PPN に注入(1.0-12.5nmol)し、その効果を解析した(n=8)。その結果、P13 のみが DMPP の局所注入で抑制され、その作用は用量依存的であった。さらに、PPN のニコチン受容体をブロックするために</p>			

学位論文の審査結果の要旨

mecamylamine (MEC; 10~100nmol)を局所注入し、その後、ニコチン(0.6mg/kg)を全身投与し、その効果への MEC の影響を検討した(n=8)。その結果、ニコチンによる P13、SR への抑制効果は MEC の前処置により有意に減弱した。しかし、海馬由来の N40 への抑制効果は有意には減弱しなかった。最後に、MEC を PPN に前投与し、DMPP(12.5nmol) の PPN 内注入の効果への影響を検討した(n=8)。MEC の前処置により、DMPP の P13 に対する抑制作用はブロックされた。ニコチンの全身投与は P13、SR を用量依存的に抑制し、DMPP の PPN 内注入は P13 を用量依存的に抑制した。MEC の PPN 内注入は、それらの抑制効果をブロックした。

本研究は、ニコチンが網様体賦活系のコリン作動系の PPN に作用し、その活性を抑制する可能性があること、その効果が、MEC 感受性の α -4 ニコチン受容体を介している可能性を示唆した。また機能的にはニコチンは覚醒状態を鎮静する方向に作用する可能性をもつことが示唆された。統合失調症、PTSD、うつ病などいくつかの疾患では、外界の刺激への注意が過敏でいわゆる超覚醒状態にあると考えられ、この覚醒レベルの異常はニコチンによって一過性に軽減されるという。共通した背景として RAS (特に PPN を介した) 出力の増加を考慮するなら、これらの疾患ではニコチンがコリン作動性 RAS 出力を抑制する可能性があるという推測が帰納されるが、本研究の結果はこれと整合している。

本研究によって得られた成績は、さまざまな精神神経疾患に随伴する覚醒レベルの異常や睡眠障害の背景を理解し治療を考えるうえに示唆に富む所見を与えている。また、論文提出者に対する試問審査においても、適切な回答がなされ、関連分野に関する一定の知識を有していることが確認された。以上の内容から、本審査委員会は本論文が医学博士の学位論文として値するものであると判定した。なお、本論文は Experimental Brain Research への掲載を承認されている。